ASSURE® HEV IgM

PRUEBA RÁPIDA

CE

FECHA DE REVISIÓN: 05/06 Nota: Cambios resaltados
MDH 0011-SPN-0

REF 43160-020 (20 equipos de prueba)

NOMBRE COMERCIAL Y USOS

El **ASSURE HEV IgM Prueba Rápida de diagnóstico MP (MPD)** es un equipo de prueba inmunocromatográfica cuya intención es la rápida detección de anticuerpos IgM del virus de la Hepatitis E (VHE) en suero humano, plasma o la totalidad de la sangre. Está destinado como prueba de diagnóstico clínico para diagnosticar infección con hepatitis E.

INTRODUCCIÓN

La Hepatitis E es conocida como entéricamente trasmitida ni como hepatitis A ni B (ET-NANB) y el agente etiológico para este padecimiento ha sido bien establecido como un virus particular de ARN, sin envoltura, y con sentido positivo nombrado como el virus de la hepatitis E (VHE) (1-3). Aunque la enfermedad está autolimitada con un rango de mortalidad del 1-3% en general en poblaciones adultas, la hepatitis E en mujeres embarazadas puede tomar formas más severas con un rango de fatalidad mayor al 20%, especialmente durante el tercer trimestre (4). Existen muchas evidencias que sugieren que esta hepatitis ocurre no sólo en áreas en desarrollo como el Centro y Sur de Asia, Norte u Oeste de África, Medio Oriente o en México, sino también en Naciones industrializadas y en áreas incluyendo a los Estados Unidos, Japón y Europa. Por consiguiente, esta enfermedad podría ser esparcida antes de ser reconocida previamente. (5-6).

Como instrumentos comúnmente disponibles para la detección de la enfermedad permanecen principalmente una base de laboratorio con personal entrenado y equipo adecuado, una simple prueba rápida que implica una detección temprana al punto de cuidados, en el caso de que las facilidades de laboratorio no son accesibles resulta, por consiguiente, una necesidad insatisfecha para el manejo de la hepatitis E. El equipo de diagnóstico de prueba rápida **MP Diagnostics ASSURE® HEV IgM** se desarrolló para mostrar esa necesidad. La nueva prueba es una prueba en flujo de reversa de inmunocromatografía (7) y usa mus inmovilizado de anticuerpos humanos IgM para capturar los anticuerpos IgM en muestras de prueba. La presencia de los anticuerpos IgM capturados específicos de VHE es detectada por el anticuerpo coloidal monoclonal de etiqueta dorada (8) premezclado con proteína recombinante (9-10).

DESCRIPCIÓN DE SÍMBOLOS USADOS

Los siguientes son símbolos gráficos usados o encontrados en los productos de diagnóstico MP y en sus empaques. Estos símbolos son los más comunes que aparecen en los aparatos médicos y en sus empaques. Estos están explicados con más detalle en los estándares Británicos y Europeos BS EN 980: 2003.

Usado por *Sinónimo para esto:* *Fecha de expiración*		IVD	Aparato médico de diagnóstico in vitro
LOT	Código de lote *Sinónimos para estos son:* *Número de lote* *Número de grupo*	REF	Número de catalogo
			Atención. Ver instrucciones de uso
	Límites de temperatura	EC REP	Representante Autorizado en la Comunidad Europea
	Fabricante		Consulte instrucciones de uso
Σ	Contiene suficiente como para <n> pruebas		
	No re-usar		

PRINCIPIOS BIOLÓGICOS Y QUÍMICOS DEL PROCEDIMIENTO

La prueba rápida MPD ASSURE® HEV IgM es una captura IgM en fase sólida de ensayo inmuno cromatográfico. Todos los anticuerpos de la clase IgM cuando se presentan en la muestra de prueba , pueden ser capturados por los anticuerpos humanos IgM inmovilizados en la membrana. La presencia de los anticuerpos VHE específicos IgM puede ser diferenciada y detectada por un inmuno clomplejo de anticuerpos VHE de etiqueta dorada y de antígenos VHE inmovilizados en el equipo y podrán ser visualizados con líneas rosas y púrpuras después del ensayo. Además, los anticuerpos inmovilizados IgG de conejo que pueden ser reconocidos por el anticuerpo IgG coloidal de etiqueta dorada se usaron como control para la función apropiada de los reactivos.

COMPONENTES DEL EQUIPO

DEVICE	Los aparatos de Prueba Rápida IgM de MPD ASSURE® HEV IgM se encuentran en bolsas individuales selladas con un desecante. Almacenar a 2°C - 28°C	20 aparatos
BUFFER	FUNDA CON BUFFER Almacenar a 2°C - 28°C	1 botella (5 ml)
APPLICATOR A	APLICADOR DE LA MUESTRA Veinte muestras plásticas de aplicadores, cada una con marcas a 25 µl y 35 µl	20 piezas
	MANUAL DE INSTRUCCIONES	1 copia

INFORMACIÓN DE SALUD Y SEGURIDAD

1. En caso de accidente o contacto con los ojos, enjuáguese inmediatamente con gran cantidad de agua y busque supervisión médica.
2. Consulte un médico inmediatamente en el caso de ingerir materiales contaminantes o en caso de entrar en contacto con heridas expuestas u otras aperturas de la piel.
3. Enjuague cualquier salpicadura de suero, plasma o sangre pronto con solución de hipoclorito de sodio al 1%.
4. Introduzca a la autoclave todos los materiales contaminados a 121°C, 15 p.s.i. por 30 minutos antes de desecharlos. Alternativamente, descontamine los materiales en una solución de hipoclorito de sodio al 5% durante 30-60 minutos antes de desecharlos y en bolsas selladas de basura.

PRECAUCIONES ANALÍTICAS:

1. Sólo usar para el diagnóstico *in vitro*.
2. Para uso profesional únicamente.
3. Por favor refiérase al producto etiquetando la información de sus componentes potenciales peligrosos.
4. Se deben usar guantes.
5. Para un óptimo desempeño del ensayo se requiere una **ESTRICTA ADHERENCIA** al procedimiento descrito del ensayo en este manual de instrucciones cualquier desviación de procedimiento puede provocar resultados alternos.
6. No intercambie reactivos entre los lotes de equipos.
7. No use componentes después de la fecha de expiración impresas en las cajas de los equipos.
8. Los reactivos sustitutos no representan un factor de riesgo para la salud si es que se usan de acuerdo con las instrucciones establecidas.
9. Para mejores resultados permita que todos los reactivos y muestras alcancen una temperatura de cuarto (25°C ± 3°C) antes de su uso.

INSTRUCCIONES DE ALMACENAMIENTO

1. Almacene el equipo completo a 2°C - 28°C. Los aparatos de prueba deberán ser guardados sellados hasta su uso.

MATERIALES REQUERIDOS PERO NO PROPORCIONADOS

1. Lancetas
2. Limpiadores de alcohol

PRECAUCIONES DE SEGURIDAD

1. Introduzca a la autoclave todo el material usado y contaminado a 121°C, 15 p.s.i. durante 30 minutos antes de desecharlo. Alternativamente, descontamine los materiales en solución de hipoclorito de sodio al 5% de 30-60 minutos antes de desecharlos, empacarlos y sellarlos en bolsas de basura.
2. Enjuague cualquier salpicadura de suero, plasma o sangre pronto con solución de hipoclorito de sodio al 1%.

COLECCIÓN DE LA MUESTRA

Toda la sangre puede ser colectada en tubos que contengan anti-coagulante y serán usados como en el procedimiento del ensayo e inmediatamente serán almacenados entre los 2°C y 8°C por no más de 48 horas antes de su uso.

Las muestras de suero / plasma deberán ser almacenadas entre 2°C y 8°C si es que la prueba se va a correr dentro de los siguientes 7 días de la colección, o deberán ser congeladas a –20°C o más , si es que la prueba va tardar más de 7 días. Limpie las muestras, son preferibles las muestras no hemolizadas. Las muestras lipemicas, ictéricas o contaminadas (partículas) deberán ser filtradas (0.45 µm) o centrifugadas antes de ser evaluadas.

El suero de los pacientes puede ser inactivado pero no es un requerimiento para un mejor desempeño de la prueba.
Inactive de la siguiente manera:

1. Afloje las tapas anchas de los contenedores de suero.
2. Caliente el suero a 56°C por 30 minutos en un baño de agua.
3. Permita que el suero se enfríe antes de volver a apretar las tapas.
4. El suero puede ser almacenado en congelación hasta el análisis.

No se recomienda repetir ciclos de congelación y descongelación con el suero del paciente.

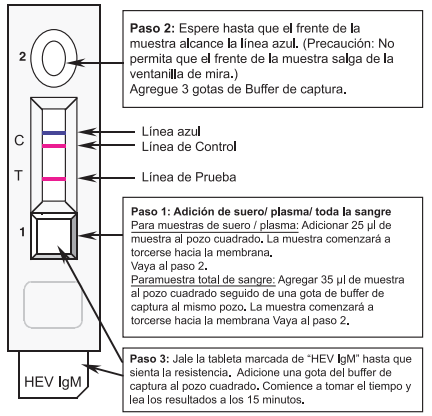
PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

IMPORTANTE : La estricta adherencia al procedimiento del ensayo asegurará un óptimo desempeño del ensayo. Las desviaciones del procedimiento pueden lanzar resultados aberrantes.

Nota: Permita que el equipo permanezca a la temperatura del cuarto antes de correr el ensayo. Si se encuentran precipitados en el buffer reactivo de captura , agite la botella vigorosamente y permita que se caliente poco a poco. Omita el ultimopaso si el kit es almacenado de 18°C a 28°C.

1. Abra la bolsa cortando la sección sellada de la misma.
2. Etiquete el aparato de prueba con el nombre de la muestra.
3. Prosiga con los procedimientos del ensayo tal y como se muestran en el diagrama de abajo.

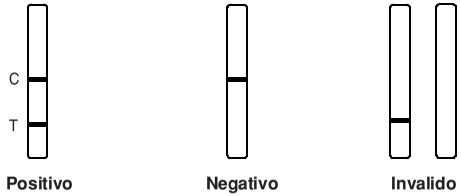
REPRESENTACIÓN DEL DIAGRAMA DEL PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO


2
C
T
1
HEV IgM
Paso 2: Espere hasta que el frente de la muestra alcance la línea azul. (Precaución: No permita que el frente de la muestra salga de la ventanilla de mira.)
Agregue 3 gotas de Buffer de captura.
Línea azul
Línea de Control
Línea de Prueba
Paso 1: Adición de suero/ plasma/ toda la sangre
Para muestras de suero / plasma: Adicionar 25 µl de muestra al pozo cuadrado. La muestra comenzará a torcerse hacia la membrana.
Vaya al paso 2.
Paramuestra total de sangre: Agregar 35 µl de muestra al pozo cuadrado seguido de una gota de buffer de captura al mismo pozo. La muestra comenzará a torcerse hacia la membrana Vaya al paso 2.
Paso 3: Jale la tableta marcada de "HEV IgM" hasta que sienta la resistencia. Adicione una gota del buffer de captura al pozo cuadrado. Comience a tomar el tiempo y lea los resultados a los 15 minutos.

CONTROL DE CALIDAD

1. La corrida de los resultados positivos y negativos es opcional (no está incluida).
2. Las líneas de control contienen un tinte azul que es la única línea visible antes de correr el ensayo. Esta línea desaparecerá al final del ensayo.
3. Si la línea de control en la posición C no se vuelve visible, la prueba es invalida. Las muestras positivas tendrán una banda de color adicional en la posición T.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS



Las líneas de color aparecerán en las posiciones "C" o "T" con las siguientes interpretaciones:

1. **Positivo** para anticuerpos VHE IgM si las bandas de color aparecen en la línea de prueba (T) y en la línea de control (C). Cualquier intensidad de la banda debe ser considerada como positiva.
2. **Negativo** para anticuerpos HEV IgM si sólo la línea de control (C) es visible a través de la ventana de visión.
3. **Invalido** si la línea de control (C) está ausente. Si esto ocurre, el ensayo debe repetirse usando un nuevo aparato.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

El óptimo desempeño del ensayo requiere de una estricta adherencia al procedimiento de ensayo descrito. La desviación del procedimiento puede lanzar resultados aberrantes. Un resultado negativo no excluye la posibilidad de la exposición a la infección con VHE.

DESEMPEÑO

Especificidad y sensibilidad

El desempeño de la prueba rápida del ASSURE® HEV IgM fue evaluado con alrededor de 2000 muestras de sangre, entre ellas había una población de pacientes con otras hepatitis (n=512) quienes tenían otras presentaciones clínicas de los de la hepatitis E. La prueba Rápida ASSURE® HEV IgM fue capaz de mantener una especificidad del 96.8% en este grupo de pacientes y al mismo tiempo detectó a los pacientes agudos de hepatitis E (n=853) con una sensibilidad del 96.0%. Más aún, fue capaz de mantener una especificidad del 98.4% para la población sana (n=629). Esto le confiere al la prueba rápida ASSURE® HEV IgM una predicción positiva del 96.8% y valores de predicción negativa del 97.1%. (Tabla 4).

Para el estudio uno (Tabla 1), las muestras de pacientes con hepatitis aguda que fueron obtenidas en Nepal y en China. Las muestras de pacientes con otras hepatitis o con otras infecciones fueron colectadas localmente en Australia o se compraron de otras fuentes comerciales. La sensibilidad total y la especificidad de estos estudios fueron del 96.7% y 98.6% respectivamente.

Para el segundo estudio (Tabla 2), las muestras de los pacientes con infecciones VHE fueron de Indonesia y Nepal. Las muestras de los pacientes con otras hepatitis o los controles de salud fueron de Tailandia, Nepal, Camboya e Indonesia. La sensibilidad y la especificidad totales para esos estudios fueron del 93.0% y 100% respectivamente.

De otros dos estudios clínicos en China (Tabla 3), la sensibilidad y la especificidad de los estudios combinados es del 97.0% y del 96.5% respectivamente. Más aún, en uno de los sitios hubo un estudio de 100 pares de plasma emparejados con sangre de donadores sanos. El acuerdo entre el plasma y las muestras totales de plasma es del 100%.

Tabla 1:

Status de pacientes del grupo de suero	No. de positivos y desempeños %
Suero de pacientes con:	
Hepatitis E aguda (Nepal, erupción)	77/80
Hepatitis E aguda (Nepal, esporádico)	30/30
Hepatitis E aguda (China, esporádico)	39/41
Sensibilidad total	**96.7% (n=151)**
DE pacientes con otra hepatitis:	
Anticuerpo positivo HAV	0/65
Positivo HBsAg	0/13
Anticuerpo positivo HCV	0/10
De otros pacientes de control:	
Positivo HSV IgM	0/10
Positivo Toxo IgM	0/5
Artritis reumatoide	1/5
Lupus sistémico Eritematoso	0/5
Controles de salud:	
Donadores de sangre (Australia)	0/30
Individuos sanos (Nepal)	0/30
Donadores de sangre (EUA)	2/35
Especificidad total	**98.6% (n=208)**

Tabla 2:

Status de pacientes del grupo de suero	No. de positivos y desempeños %
Suero de pacientes con:	
Hepatitis E aguda (positivos PCR e IgM)	186/200
Sensibilidad total	**93.0% (n=200)**
De pacientes con otras hepatitis:	
Hepatitis A aguda	0/80
Hepatitis B aguda	0/45
Hepatitis C aguda	0/50
Controles de salud:	
Donadores de sangre (Tailandia)	0/100
Especificidad total	**100% (n=275)**

Tabla 3:

Status de pacientes y grupos	No. de positivos y desempeños %
Clínicamente diagnosticados con hepatitis E aguda	487/502
Sensibilidad total	**97.0% (n=502)**
De otros pacientes con otras hepatitis:	
Hepatitis A	9/62
Hepatitis B	5/124
Hepatitis C	2/63
Donadores sanos:	8/434
Especificidad total	**96.5% (n=683)**

Tabla 4: Resumen de datos

Status de pacientes del grupo de suero	No. de positivos y desempeños %
Suero de pacientes con:	
Hepatitis Aguda E	819/853
Sensibilidad total	**96.0% (n=853)**
De otros pacientes sin hepatitis	1/25
De otros pacientes con otras hepatitis	16/512
Donadores sanos	10/629
Especificidad total	**97.7% (n=1166)**
Valores predictivos positivos totales (VPP)	**96.8%**
Valores predictivos negativos totales (NVP)	**97.1%**

BIBLIOGRAFÍA

1. **Reyes, G. R., M. A. Purdy, J. P. Kim, K. C. Luk, L.M. Young, K. E. Fry, and D. W. Bradley.** 1990. Isolation of a cDNA from the virus responsible for enterically transmitted non-A, non-B hepatitis. Science. **274:** 1335-1339.
2. **Tam, A. W., M. M. Smith, M. E. Guerra, C. C. Huang, D. W. Bradley, K. E. Fry, and G. R. Reyes.** 1991. Hepatitis E virus (HEV): molecular cloning and sequencing of the full-length viral genome. Virology. **185:**120-131.
3. **Huang, C. C., D. Nguyen, J. Fernandez, K. Y. Yun, K. E. Fry, D. W. Bradley, A. W. Tam, and G. R. Reyes.** 1992. Molecular cloning and sequencing of the Mexico isolate of hepatitis E virus (HEV). Virology. **191:** 550-558.
4. **Hussani, S. H., S. J. Skidmore, P. Richardson, L. M. Sherratt, B. T. Cooper, and J. G. O'Grady.** 1997. Severe heptitis E infection during preganancy. J. Viral Hepat. **4:**51-54.
5. **Emerson, S. U., and R. H., Purcell.** 2003. Hepatitis E virus. Rev. Med. Virol. **13:** 145-154.
6. **Worm, H. C., and G. Wirnsberger.** 2004. Hepatitis E vaccines: progress and prospects. Drug. **64:**1517-1531.
7. **Guan, M., H. Y. Chen, T. P. Chow, A. R. Pereira, and P. K. Mun.** November 2001. Assay devices and methods of analyte detection. U.S. Patent 6, 316, 205.
8. **Riddell, M. A., F. Li, and D. A. Anderson.** 2000. Identification of immunodominant and conformational epitopes in the capsid protein of hepatitis E virus by using monoclonal antibodies. J. Virol. **74:** 8011-8017.
9. **Anderson, D. A., F. Li, M. Riddell, T. Howard, H-F. Seow, J. Torresi, G. Perry, D. Sumarisidi, S. M. Shrestha, and I. L. Shrestha.** 1999. ELISA for IgG-class antibody to hepatitis E virus based on a highly conserved, conformational epitope expressed in Eschericia coli. J. Virol. Methods. **81:** 131-142.
10. **Li, F., J. Torresi, S. A. Locarnini, H. Zhuang, W. F. Zhu, X. X. Guo, and D. A. Anderson.** 1997. Amino-terminal epitopes are exposed when full-length open reading frame 2 of hepatitis E virus is expressed in Escherichia coli, but carboxy-terminal epitopes are masked. J. Med. Virol. **52:**289-300.
11. **Chen, H.Y., Y. Lu, T. Howard, D. Anderson, P. Fong, W. P. Hu, C. P. Chia and M. Guan.** 2005, An immunochromatographic test and its comparison to enzyme-linked immunosorbent assay for rapid detection of immunoglobulin M antibodies to hepatitis E virus in patient sera. Submitted. Clin Diagn Lab Immunol 12(5): 593 - 598.

GARANTÍA LIMITADA EXPRESADA

El fabricante no expresa ninguna garantía más que la que el equipo de prueba funcionará como un ensayo de diagnóstico *in vitro* con las especificaciones y limitaciones descritas en el manual de instrucción cuando se use de acuerdo a las instrucciones en él contenidas. El fabricante renuncia a cualquier garantía expresada o implícita, incluyendo aquella expresada o implícita con respecto a la comercialización y salud para uso o utilidad implicada para cualquier otro propósito. La responsabilidad del fabricante será el reemplazo del producto o el reembolso del precio de compra del producto. El fabricante no será responsable hacia el comprador o terceras personas de ningún daño, maltrato o pérdida económica causada por el uso o aplicación del producto.

PROBLEMAS TÉCNICOS / QUEJAS

Deberá haber algún problema técnico / queja:

1. Anote el número de lote y la fecha de expiración.
2. Retenga el quipo y el aparato de prueba.
3. Contacte la oficina Biomédica MP o a su distribuidor local.

MP Biomedicals Asia Pacific Pte Ltd.
85 Science Park Drive #04-01
The Cavendish,
Singapore Science Park
Singapore 118259
Tel No.: +65-6775 0008
Fax No.: +65-6775 4536
Email: enquiry_ap@mpbio.com

EC REP
Medical Technology Promedt
Consulting GmbH
Altenhofstrasse 80
D-66386 St. Ingbert
Germany
Tel. No. : + 49-68 94 - 58 1020
Fax No. : + 49-68 94 - 58 1021
Email : info@mt-procons.com

Oficinas Regionales:

MP Biomedicals Suisse S.A.
Halle de Fret/Aeroport
P.O. Box 1015
1211 Geneva 5
Switzerland
Tel No. : +41-22-788-1908
Fax No. : +41-22-788-1986
Email: mpbiosuisse@mpbio.com

El nombre y el logotipo de Genelabs son licencia de Genelabs Technologies Inc

* Patentes Americanas 5,741,490; 5,770,689; 5,885,768; 5,686,239; 6,514,690 B1; 6,316,205
* Patentes de Singapur 39445, 49225
* Australia 644878; 694139
* Taiwan 63167
* Korea del Sur 178399; 180530
* EPO Patent 623169
* China 50064; 1,075,112C
* Otras patentes pendientes